

Stappia aggregata G1 DAN *Alteromonas* sp.G2 BAKTERIPENDEGRADASI
PHENANTRENE YANG DIISOLASIDARI LINGKUNGAN LAUT¹
[*Stappia aggregata* G1 and *Alteromonas* sp.G2 Phenantrene Degrading Bacteria
Isolated from Marine Environment]

Dyah Supriyati

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi - LIPI
Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta-Bogor km 46, Cibinong 16911
e-mail: gutithm@yahoo.com

ABSTRACT

Stappia aggregata G1 and *Alteromonas* sp. G2 are marine bacteria isolated from Kepulauan Seribu waters, Jakarta. These bacteria were isolated using ONR7a media, and forming clear zone surrounding grown colonies after 48 hours, and able to grow on phenantrene as the sole carbon sources. After 4 hours incubation phenantrene was degraded, and almost 12 hours about 60% of phenantrene was converted. The two strains performed similar biodegradation pattern, but different in growth characteristic. Bacteria *Stappia aggregata* G1 and *Alteromonas* sp. G2 grew optimum at 30°C, pH 8 and 3‰ salinity.

Kata kunci: bakteri, phenanthrene, degradasi, lingkungan laut.

FENDAHULUAN

Saat ini mikroba laut/marin banyak dikaji kemampuannya dalam proses biokonversi senyawa berbahaya, termasuk pestisida. Distribusi ekologi mikroba laut tergantung dari rentang toleransi salinitas, temperatur dan pH. Parameter lingkungan sangat menentukan fisiologi dan aktivitas sel mikroba tersebut. Demikian juga aktivitas mikroba yang mampu mendegradasi phenantrene, tergantung dari parameter lingkungan tersebut (Mulder *et al.*, 2001; Uyttebroek *et al.*, 2002).

Phenantrene adalah anggota senyawa Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) dan merupakan salah satu komponen tumpahan minyak bumi yang berbahaya bagi ekosistem lingkungan laut dan bersifat karsinogenik yang sangat berbahaya bagi kesehatan manusia (Cerniglia, 1984). Senyawa phenantrene diketahui dapat terbioakumulasi pada rantai makanan, bersifat potensial karsinogenik, dan sulit terdegradasi (persisten) di lingkungan alamiah. Bila kondisi ini terus dibiarkan saja, maka Keoeraaan phenantrene akan menimbulkan dampak negatif yang signifikan bagi keberlangsungan populasi di lingkungan laut yang terkontaminasi tumpahan minyak bumi. Pencemaran lingkungan laut oleh minyak bumi, bisa disebabkan oleh berbagai hal antara lain tercecernya minyak bumi pada proses pengolahan, distribusi, maupun penggunaannya sehingga

komponen-komponen minyak bumi terlepas ke dalam lingkungan. Untuk itu perlu dilakukan proses pembersihan terhadap tumpahan minyak bumi dengan teknik bioremediasi yaitu biostimulasi dan bioaugmentasi. Peran bakteri indigenous akan sangat penting dalam proses biostimulasi.

Karakteristik ekologi dari mikroba yang mampu mendegradasi phenantrene perlu dipelajari, untuk memprediksi distribusi ekologi dari jasad renik yang berpeluang dimanfaatkan sebagai agen bioaugmentasi. Mikroba laut yang dilaporkan memiliki distribusi ekologi sangat luas, adalah marga *Spingomonas*, yang dapat hidup dari salinitas rendah (0‰) sampai dengan salinitas tinggi (10‰). Sedangkan dari marga *Salipiger* kemungkinan mempunyai rentang distribusi ekologi yang lebih sempit, karena beberapa anggota dari marga *Salipiger* tidak dapat tumbuh pada salinitas 0‰ (Cerniglia, 1984).

Penelitian untuk mengetahui kemampuan mikroba memecah senyawa Phenantrene menjadi senyawa yang tidak berbahaya, juga telah banyak dilakukan. *Cycloclasticus pugetti* dan *Pseudomonas* spp., adalah bakteri-bakteri telah dilaporkan mampu memecah PAH terutama phenantrene menjadi senyawa karbon dioksida melalui alur degradasi yang sangat kompleks, yang dikontrol oleh novel gen (Ferrero *et al.*, 2002; Johnsen dan Karlson, 2004; López *et al.*, 2006).

Penelitian ini dilakukan untuk mendapatkan dan

¹Diterima: 23 Agustus 2009 - Disetujui: 16 September 2009

mengetahui karakteristik mikroba laut yang mempunyai potensi sebagai agen bioaugmentasi untuk limbah yang mengandung PAH phenantrene minyak bumi.

BAHANDANCAKERJA

Pengambilan sampel

Sampel diambil dari pantai dan laut Kepulauan Seribu, Jakarta dengan posisi geografis S: 05° .67' 36.6" E: 106° 31' 19.3". Bakteri G1 diperoleh dari sampel pasir, dan G2 diperoleh dari sampel air laut.

Isolasi dan seleksi mikroba

Bakteri potensial pendegradasi phenantrene, diisolasi pada medium minimum ONR7a dengan komposisi NaCl 22.79gr; MgCl₂-6Hp 11,18gr, Na⁺O, 3,98 gr, CaCl₂-2H₂O 1,46 gr, TAPSO {3-[N-tris (hydro xymethyl) m ethyl ami no] -2-hydroxypropanesulfonic acid} 1,3 gr, KC10,72 gr, NH₄Cl 0,27 gr, Na₂HPO₄-7H₂O 89 mg, NaBr 83 mg, NaHCO₃ 31 mg, H₃BO₃ 27 mg, SrCl₂-6H₂O 24 mg, NaF 2,6 mg dan FeCl₂-4H₂O 2,0 mg dalam 1 liter akuades. Untuk mencegah presipitasi selama proses sterilisasi dibuat 3 macam larutan yang terpisah dan dicampurkan setelah suhu 50°C. Larutan pertama mengandung NaCl, Na₂SO₄, KC1, NaBr, NaHCO₄, H₃BO₃, NaF, NH₄Cl, Na₂HPO₄ dan TAPSO (pH 7,6); larutan kedua mengandung MgCl₂, CaCl₂ dan SrCl₂ {divalent cation salts}, dan larutan ketiga mengandung FeCl₂. Untuk memadatkan media, Noble Agar (Difco) (15,0 gr/L) ditambahkan pada larutan pertama.

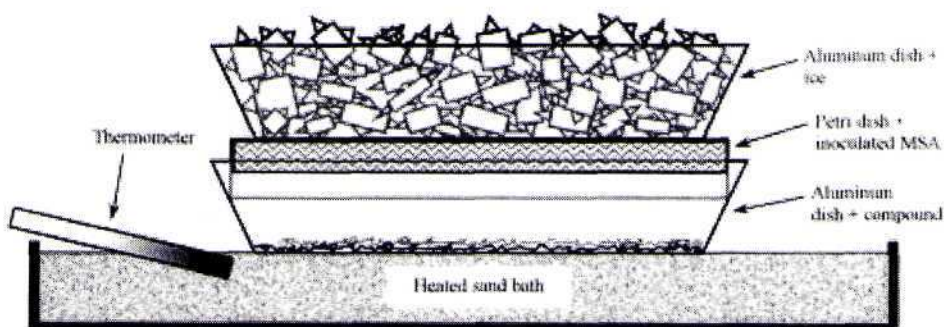
Mikroba yang akan diuji kemampuannya, ditanam pada media ONR7a, kemudian ditambahkan phenantrene, pada medium minimum ONR7a dengan menggunakan teknik sublimasi. Phenantrene

disublimasi dengan cara dipanaskan sampai suhu 100°C selama 10 menit. Media ONR7a dalam petridish diletakkan di atas phenantrene dengan posisi terbalik, dan didinginkan dengan meletakkan es batu di atasnya. Senyawa phenantrene yang menguap akan menyublim dan tertangkap pada media ONR7a di dalam petridish (Gambar 1). Mikroba yang tumbuh pada media ONR7a dan membentuk zona bening di sekitar koloni adalah mikroba pengguna phenantrene. Mikroba yang memiliki zona bening selanjutnya disubkultur pada media marine broth untuk mendapatkan biakan murni, dilanjutkan dengan identifikasi secara molekuler menggunakan analisis urutan 16S rDNA mengikuti Otsukae/a/.,2008.

Pengukuran pertumbuhan mikroba

Pertumbuhan mikroba terseleksi pendegradasi phenantrene dilakukan dengan variasi tiga parameter fisik yaitu salinitas, temperatur dan pH. Biakan murni bakteri ditumbuhkan pada media air laut, dengan sumber karbon glukosa 5 gr/1 dan yeast extract 0,5 gr/1. Tingkat salinitas yang dicobakan adalah 3% dan 5%, suhu 30°C dan suhu 40°C, serta pH 5 dan 8. Kecepatan pertumbuhan diukur dengan menggunakan Spektrofotometer pada panjang gelombang 600 run setiap 4jam

Dengan melakukan pendekatan konversi nilai kekeruhan optis (OD) menjadi nilai N atau jumlah sel per volume medium (sel/mL), dapat dihitung pertumbuhan bakteri per jam atau nilai laju pertumbuhan spesifik (μ) dan juga waktu generasi atau *doubling time* (t_d) yaitu waktu yang dibutuhkan oleh induk sel untuk membentuk sel baru (Baranyi dan Pin, 1999).



Gambar 1. Metode Sublimasi untuk mengetahui aktivitas hidrolisis phenantrene (Rahardito, 2007)

Selain itu pertumbuhan mikroba juga dilakukan dengan pengukuran biomassa sel. Sebanyak 1 ml sampel kultur diendapkan dengan disentrifiige pada kecepatan 6000 rpm selama 15 menit, pada suhu 4°C .Biomassa sel dikeringkan pada suhu 65°C selama 24 jam.

Uji Aktifitas mikroba pendegradasi phenantrene secara kuantitatif

Uji aktifitas degradasi phenantrene dilakukan secara kualitatif dengan mengamati perubahan konsentrasi total karbon phenanthrene selama selang waktu tertentu. Pengukuran total karbon dilakukan dalam fase cair, sehingga phenanthrene harus dapat dilarutkan ke dalam medium uji air laut. Phenanthrene dilarutkan dengan menggunakan DMSO sebanyak 10 % (V/V). Kecepatan degradasi diukur setiap 4 jam, dengan menggunakan GCMS (Harayama *et al.*, 1999).

HASH.

Analisa kualitatif mikroba yang mampu mendegradasi PAHs dilakukan dengan menggunakan metoda sublimasi. Terbentuknya zona bening pada koloni bakteri yang sedang tumbuh merupakan indikasi mikroba mampu menghidrolisis phenantrene. Diversitas mikroba pendegradasi phenantrene diperlihatkan pada Tabel 1, yang memperlihatkan bahwa isolat G1 dan G2 mampu menghidrolisis phenantrene dengan cepat, zona bening terbentuk setelah 48 jam inkubasi. Kedua isolat tersebut kemudian diidentifikasi secara molekuler menggunakan analisis urutan 16S rDNA (Otsuka *etal.*, 2008). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa G1 adalah *Stappia aggregata* dan G2 adalah *Alteromonas* sp. dengan homologi 98%.

Kecepatan hidrolisis phenantrene

Kemampuan degradasi PAHs diuji pada medium ONR7a. Medium ini mengandung kebutuhan nitrogen dan fosfat yang memadai untuk degradasi phenantrene.

Stappia aggregata G1 mampu menghidrolisis phenantrene setelah 4 jam waktu inkubasi; sekitar 60% dari phenantrene terdegradasi dalam waktu 12 jam. Selanjutnya kecepatan degradasi lambat. *Alteromonas* sp. G2 menghidrolisis phenantrene lebih lambat dari *S. aggregata* G1. Degradasi berjalan cepat setelah 4 jam inkubasi, dan sekitar 50% phenantrene terdegradasi dalam waktu 8 jam, dan sekitar 60% dalam waktu 12 jam (Gambar 2). Untuk mengetahui kemampuan adaptasi *Stappia aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2 dilakukan uji pertumbuhan pada beberapa tingkat salinitas, suhu dan pH.

Pertumbuhan biak pada media dengan salinitas berbeda

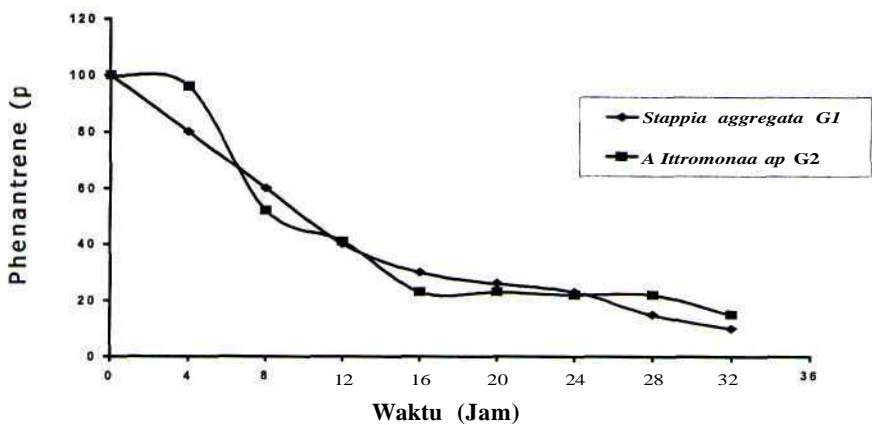
Bakteri *S. aggregata* G1 yang diperoleh dari sampel pasir, mempunyai pola pertumbuhan yang sama baik pada salinitas 3% maupun 5%. Pada salinitas 5% pertumbuhan bakteri terlihat menurun pada 28 jam inkubasi. Pertumbuhan terlihat lebih baik pada salinitas 3%. Sedangkan bakteri *Alteromonas* sp. G2 yang berasal dari air laut terlihat tumbuh lebih cepat dibandingkan dibandingkan dengan *S. aggregata* G1. Pada salinitas 5% pertumbuhan bakteri sudah menurun pada 32 jam inkubasi, sedang pada salinitas 3% bakteri tetap tumbuh stabil sampai 96 jam inkubasi (Gambar 3).

Nilai perhitungan μ dan t_d dari *Stappia aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2 pada tingkat salinitas yang berbeda diperlihatkan pada Tabel 2.

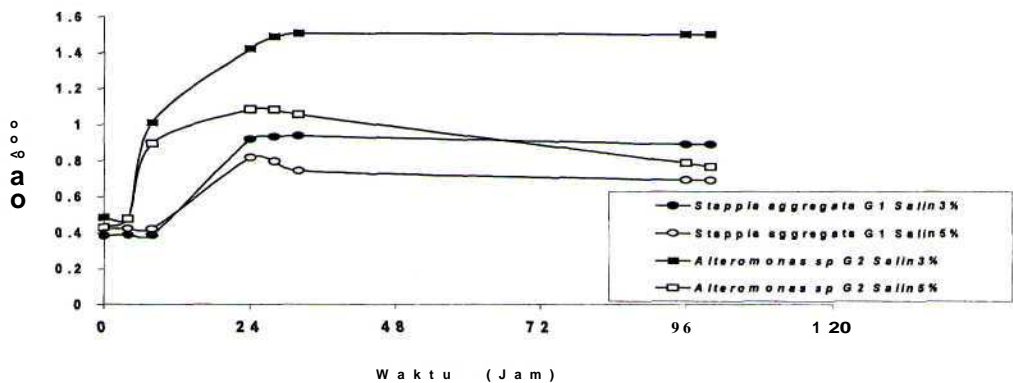
Tabel 1. Diversitas bakteri pendegradasi phenantrene

NO	Kode Biak (asal sampel)	Kemampuan mendegrnasi phenantrene	Radius zona bening	Karakter koloni
1	G1 (pasir)	++	3 mm	Warna krem
2	G2 (air laut)	++	3 mm	Warna Putih Susu
3	G3 (air laut)	-	-	Warna kuning
4	G4 (air laut)	-	-	Warna putih kekuningan
5	G5 (pasir)	+	1 mm	Putih kecoklatan

+ : Kemampuan mendegradasi phenanthrene ditandai dengan zona bening



Gambar 2. Degradasi Phenantrene oleh bakteri *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp G2



Gambar 3. Pertumbuhan bakteri laut *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp G2 pada media dengan salinitas berbeda.

Hasilnya menunjukkan bahwa nilai t_d pada salinitas 5% lebih tinggi dibandingkan dengan nilai t_d pada salinitas 3% pada kedua jenis bakteri.

Pertumbuhan bakteri *Stappia aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2 pada media dengan suhu berbeda

Bakteri *S. aggregata* G1 tumbuh mencapai awal phase eksponensial lebih cepat pada media dengan suhu 40°C dibandingkan pada suhu 30°C yaitu 4 jam pada suhu 40°C dan 8 jam pada suhu 30°C. Sedangkan bakteri *Alteromonas* sp. G2, tumbuh relatif lebih lambat dibandingkan dengan *S. aggregata* G1. Bakteri tumbuh mencapai awal phase eksponensial lebih cepat pada media dengan suhu 40°C dibandingkan pada suhu 30°C yaitu 8 jam pada suhu 40°C dan 24 jam pada suhu 30°C (Gambar 3).

Nilai perhitungan μ dan t_d dari *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2 pada tingkat suhu yang berbeda ditampilkan pada tabel 3. Hasilnya menunjukkan bahwa *S. aggregata* G1 mempunyai nilai

μ dan t_d pada suhu 30°C lebih baik dibandingkan dengan nilai μ dan t_d pada suhu 40°C, berbeda dengan *Alteromonas* sp. G2, yang nilai μ dan t_d pada suhu 40°C justru lebih baik dibandingkan dengan nilai μ dan t_d pada suhu 30°C.

Pertumbuhan bakteri pada media dengan pH berbeda

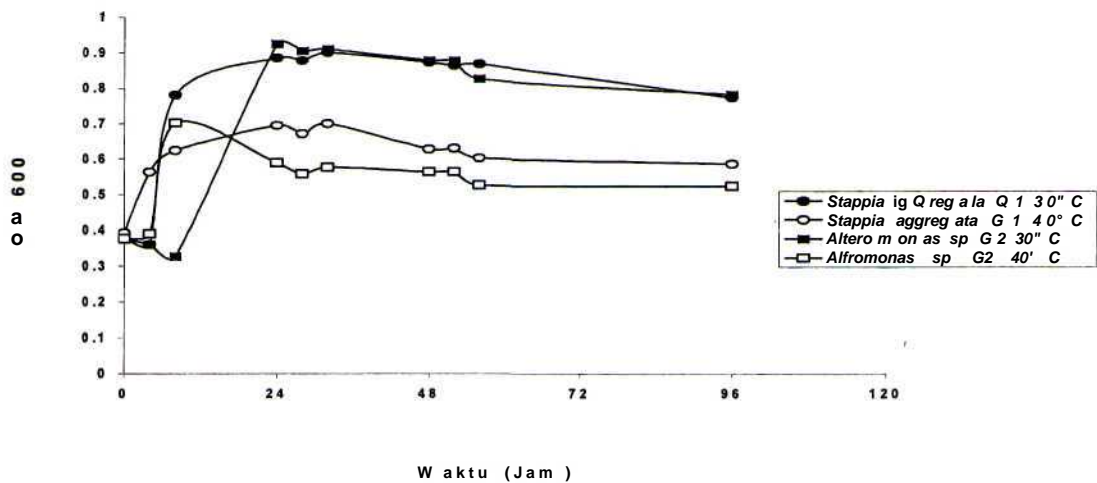
Pertumbuhan bakteri *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G terlihat lebih baik pada pH 8 dibandingkan dengan pada pH 5. Hasil tersebut dapat dilihat pada nilai μ dan t_d yang diperlihatkan di tabel 4. Pertumbuhan bakteri *S. aggregata* G1 pada media dengan pH 5 terlihat sangat terhambat dibandingkan dengan yang tumbuh pada media dengan pH 8 begitu juga yang terjadi pada bakteri *Alteromonas* sp. G2. Bakteri *Alteromonas* sp. G2 tumbuh lebih cepat dan lebih baik dibandingkan dengan *S. aggregata* G1, baik pada media dengan pH 8 maupun pH 5. Kedua bakteri tumbuh lebih baik pada media dengan pH 8.

Nilai perhitungan μ dan t_d dari *S. aggregata*

Tabel 2. Persamaan linear waktu dengan Ln N untuk penentuan nilai μ dan t_d dari salinitas 3% dan 5% pada *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp G2

Sampel	Salinitas	Persamaan Linear penentuan μ	R^2 Persamaan Linear	μ (Gam ^{'''})	t_d (j>ni)
<i>Stappia aggregata</i> G1	3%	$Y= 0,029 x +0,3973$	$R^2 = 0,9722$	0,029	23,79
	5%	$Y= 0,0211 x +0,548$	$R^2 = 0,9635$	0,0211	32,70
<i>Alteromonas</i> sp G2	3%	$Y= 0,0376 x +0,4972$	$R^2 = 919$	0,0376	18,35
	5%	$Y=0,0275x+ 0,4739$	$R^2 = 0,8169$	0,0275	25,09

Ket: nilai $t_d=(Ln2/n)$.



Gambar 4. Pertumbuhan bakteri laut *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp G2 pada media dengan suhu berbeda

Tabel 3. Persamaan linear waktu dengan Ln N untuk penentuan nilai n dan t_d dari suhu 30°C dan 40°C pada *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2

Sampel	Suhu	Persamaan linear penentuan μ	R^2 persamaan linear	H (jam •')	Td (jam)
<i>Stappia aggregata</i> G1	30 °C	$= 0,0501 x0.3085$	$R^2= 0,7294$	0,0501	13,77
	40 °C	$= 0,0289 x+0,4102$	$R^2= 0,9309$	0,0289	23,87
<i>Alteromonas</i> sp. G2	30 °C	$= 0,0308 x+0,2906$	$R^2= 0,9438$	0,0308	22,40
	40 °C	$= 0,041 x + 0,3143$	$R^2= 0,7729$	0,041	16,83

Ket: nilai $t_d=(Ln2/n)$.

Gldan *Alteromonas* sp. G2 pada tingkat pH yang berbeda disimpulkan pada Tabel 4. Hasilnya menunjukkan bahwa nilai μ dan t_d pada pH 8 lebih baik dibandingkan dengan nilai μ dan t_d pada pH 5 pada kedua jenis bakteri.

Produksi Biomassa

Produksi biomassa *S. aggregate* G1 dan *Alteromonas* sp. G2 yang diukur dengan menimbang berat sel, menunjukkan bahwa *Alteromonas* sp. G2 yang berasal dari air laut memiliki berat sel lebih tinggi dibandingkan dengan 5. *aggregate* G1 yang berasal dari pasir pada setiap variasi salinitas, suhu maupun

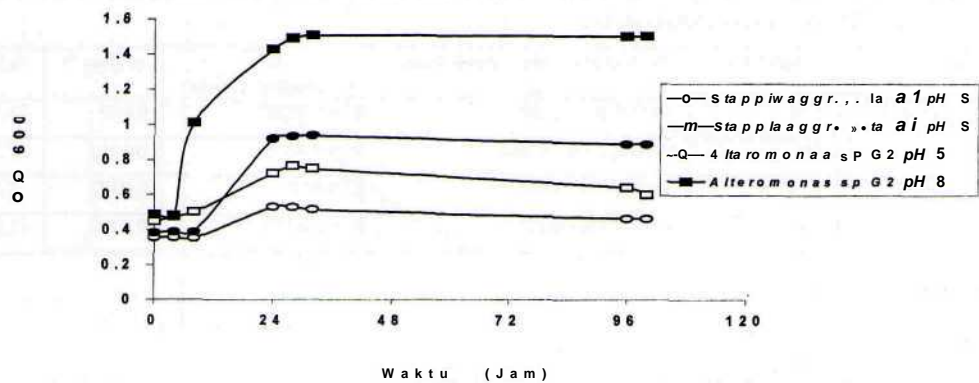
pH (Gambar 6).

PEMBAHASAN

Isolasi, purifikasi, uji konfirmasi biak pendegradasi PAH dan identifikasi

Pembentukan zona bening di sekeliling koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media ONR7a yang mengandung phenantrene menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat tumbuh dan mampu memanfaatkan senyawa phenantrene sebagai sumber karbon dalam metabolismenya.

Media ONR7a yang digunakan dalam penelitian

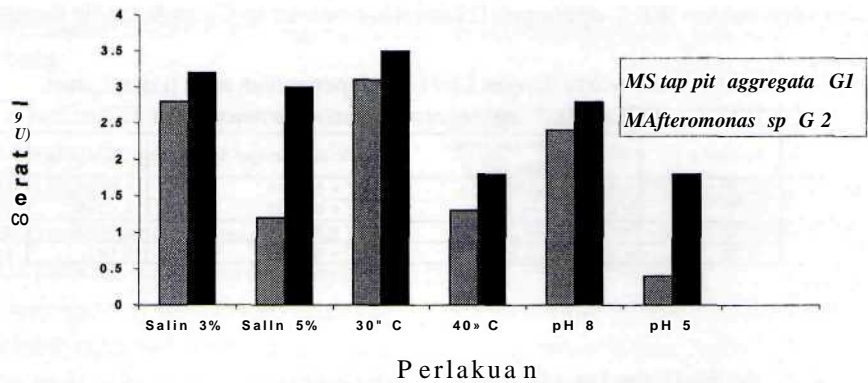


Gambar 5. Pertumbuhan bakteri *Stappia aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2 pada media dengan pH berbeda

Tabel 4. Persamaan linear waktu dengan Ln N untuk penentuan nilai μ dan t_d dari pH 8 dan pH 5 pada *Stappia aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2

Sampel	pH	Persamaan linear penentuan n	R ² persamaan linear	(jam ⁻¹)	(jam)
<i>Stappia aggregata</i> G1	pH 5	Y= 0,0095x + 0,3555	R ² = 0,9606	0,0095	72,63
	pH 8	Y= 0,023 x +0,3071	R ² =0,94	0,023	30
<i>Alteromonas</i> sp. G2	pH 5	Y= 0,012x + 0,4282	R ² = 0,9895	0,012	57,5
	pH 8	Y= 0,0371 x+0,5069	R ² = 0,8817	0,0371	18,6

Ket: nilai t_d =(Ln2/ μ).



Gambar 6. Berat sel bakteri *Stappia aggregated* dan *Alteromonas* sp. G2 pada media air laut.

ini menggunakan medium air laut steril terfiltrasi dan dilarutkan senyawa phenanthrene sebagai satu-satunya sumber karbon (tidak dilakukan penambahan sumber karbon lain) dengan konsentrasi 100 mg/L. Media *seawater* ini dipilih karena menurut Springael (2006) recovery bakteri laut pada penanaman menggunakan medium *seawater* ini adalah berkisar 2 - 60%, di mana lebih tinggi dari yang didapat dengan medium konvensional (kurang dari 0,1%). Tumbuhnya

bakteri *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2, pada media air laut yang mengandung phenantrene, menunjukkan bahwa bakteri tersebut dapat memanfaatkan sumber karbon hanya dari phenantrene.

Isolat *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2 mampu menghidrolisis phenantrene setelah 4 jam waktu inkubasi, sekitar 60 % dari Phenantrene terdegradasi dalam waktu 12 jam. Selanjutnya kecepatan degradasi lambat (Gambar 1). Setelah 12 jam aktivitas degradasi

terlihat melemah dan di akhir pengamatan bakteri *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2 masih menyisakan phenantrene 10% dan 15%. Hasil ini relatif lebih bagus dibandingkan dengan bakteri laut *Alpha proteobacterium* strain GMDJE10F1 yang mampu mendegradasi phenantrene sekitar 65,23% dan *Ruegeria* sp. strain DG898 sekitar 70% (Rahardito, 2007).

Uji pertumbuhan dengan variasi salinitas, pH dan temperatur

Bakteri *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2 tumbuh lebih baik pada media dengan salinitas 3% dibandingkan dengan media dengan salinitas 5%. Nilai t_d *S. aggregata* G1 pada salinitas 3% adalah 23,79 jam, artinya setiap 23,79 jam terbentuk dua sel baru hasil pembelahan biner dari sel induk bakteri *S. aggregata* G1. Sedangkan di media dengan salinitas 5%, bakteri & *aggregata* G1 mempunyai nilai t_d 32,7 jam. Bakteri *Alteromonas* sp. G2 pada media dengan salinitas 3% mempunyai nilai t_g 18,35 jam, dan pada salinitas 5% nilai t_d menjadi 25,09 jam (Tabel 2). Kedua bakteri tersebut sudah mulai terhambat pertumbuhannya pada media dengan salinitas 5%. Dengan demikian *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2 mempunyai rentang salinitas yang relatif sempit dibandingkan dengan marga *Spingomonas* yang memiliki distribusi ekologi yang sangat luas dari salinitas rendah (0%) sampai dengan salinitas tinggi (10%), maupun dengan *Salipiger* yang mempunyai rentang distribusi ekologi yang lebih sempit dibandingkan dengan marga *Spingomonas* karena beberapa anggota dari marga *Salipiger* tidak dapat tumbuh pada salinitas 0% (Cerniglia, 1984). Hal ini mencirikan bahwa *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2 merupakan bakteri yang hanya mampu hidup di lingkungan laut tropis. Daerah tropis yang mempunyai curah hujan tinggi dan evaporasi rendah memiliki karakteristik air laut dengan kadar salinitas rendah.

Pertumbuhan biak *S. aggregata* G1 pada media dengan suhu 30°C lebih baik dibandingkan dengan 40°C. Nilai t_d bakteri *S. aggregata* G1 pada suhu 30°C adalah 13,77 jam sedangkan nilai t_d pada suhu 40°C adalah 23,87 jam. Selanjutnya bakteri *Alteromonas* sp. G2 berbeda dengan G1. Bakteri *Alteromonas* sp. G2

mempunyai waktu generasi yang lebih pendek justru pada media dengan suhu 40°C yaitu 16,83 jam, sedangkan pada media dengan suhu 30°C bakteri *Alteromonas* sp. G2 mempunyai nilai t_d 22,40 jam (Tabel 3), tetapi pertumbuhan lebih subur (nilai OD lebih tinggi) pada media dengan suhu 30°C (Gambar 4). Kedua bakteri ini mempunyai rentang suhu yang relatif sama dengan bakteri laut *Alpha proteobacterium* strain GMDJE10F1 dan *Ruegeria* sp. strain DG898, yang mampu tumbuh baik pada kisaran suhu 20°C dan 40°C, tetapi tumbuh optimum pada suhu 25°C (Rahardito, 2007). Secara umum pada temperatur tinggi di atas temperatur 40°C, akan terjadi denaturasi protein dan enzim, sehingga mayoritas populasi bakteri akan mati. Sedangkan dalam kondisi temperatur ekstrim rendah bakteri akan membentuk kapsul dan tumbuh kembali saat kondisi lingkungan membaik (Sintorini *et al*, 2003).

Pertumbuhan bakteri *S. aggregata* G1 pada media dengan pH 8 sekitar 2 kali lebih cepat dibandingkan dengan pertumbuhan pada pH 5. Bakteri *S. aggregata* G1 mempunyai nilai t_d 30 jam pada pH 8 dan 72,63 jam pada pH 5. Sedangkan pertumbuhan *Alteromonas* sp. G2 yang mempunyai nilai t_d 18,6 jam pada pH 8, sekitar 3 kali lebih cepat dibandingkan dengan pertumbuhan di pH 5 waktu generasi 57,5 jam (Tabel 4). Kedua bakteri ini terlihat sangat terhambat pertumbuhannya pada pH 5. Atlas (1972) melaporkan bahwa kecepatan pertumbuhan dan biodegradasi hidrokarbon dapat dimaksimalkan pada media dengan pH berkisar antara 6 dan 9.

Dilihat dari 3 parameter di atas (waktu generasi, laju pertumbuhan spesifik dan produksi sel), menunjukkan bahwa bakteri *S. aggregata* G1 dan *Alteromonas* sp. G2 tumbuh baik pada kondisi temperatur, salinitas maupun pH yang tidak begitu jauh berbeda dengan tempat asalnya. Bakteri *S. aggregata* G1 yang diperoleh dari sampel pasir dan *Alteromonas* sp. G2 yang diperoleh dari sampel air laut, mempunyai rentang salinitas, temperatur maupun pH yang relatif sempit. Kedua bakteri tersebut tumbuh baik pada media yang kondisinya tidak jauh berbeda dengan air laut di daerah tropis yaitu pada media air laut dengan salinitas 3%, pH 8 dan suhu 30°C.

KESIMPULAN

Stappia aggregata G1 dan *Alteromonas* sp. G2 merupakan mikroba yang diharapkan dapat berperan dalam degradasi phenantrene, tumbuh optimum pada salinitas 3%, suhu 30°C dan pH 8.

Dilihat dari parameter waktu generasi, laju perumbuhan dan berat sel, bakteri *Alteromonas* sp. G2 yang berasal dari sampel air laut tumbuh lebih baik dibandingkan dengan bakteri *S. aggregata* G1 yang berasal dari sampel pasir.

Ucapan Terima kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr Made Sudiana, atas bantuannya selama melakukan penelitian hingga penulisan paper ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas RM. 1991.** Microbial hydrocarbon degradation-bioremediation of oil spills. *Journal of Chemical Technical Biotechnology* 52, 149-156.
- Baranyi J and C Pin. 1999.** Estimasi bacterial growth parameters by mean of detection time. *Appl. Environ. Microbial* 65, 732-736.
- Cerniglia CE. 1984.** Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Adv. Appl. Microbiol.* 30, 31-71.
- Ferrero M, E Llobet-Brossa, J Lallucat, E Garcia-Valdes, R Rossello-Mora and R Bosch. 2002.** Coexistence of two distinct copies of naphthalene degradation genes in *Pseudomonas* strains isolated from the western Mediterranean region. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 957-962.
- Harayama S, H Kishira, Y Kasai and K Shutsubo. 1999.** Petroleum biodegradation in marine environments. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 1, 63-70.
- Johnsen AR and U Karlson. 2004.** Evaluation of bacterial strategies to promote the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63, 452-459.
- López Z, J Vila, C Minguillo'n and M Grifoll. 2006.** Metabolism of fluoranthene by *Mycobacterium* sp. strain API. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 70, 747-756.
- Mulder H, AM Breure and WH Rulkens. 2001.** Prediction of complete bioremediation periods for PAH soil pollutants in different physical states by mechanistic models. *Chemosphere* 43, 1085-1094.
- Otsuka S, IM Sudiana, A Komori, K Isobe, S Deguchi, M Nishiyama, H Shimizu and K Senoo. 2008.** Community structure of soil bacteria in a tropical rainforest several years after fire. *Microbes Environ.* 23(1), 48-56.
- Rahardito BW. 2007.** Biodegradasi senyawa polycyclic aromatic hydrocarbon phenanthrene oleh bakteri indigenous Laut Pari. *Skripsi.* Jurusan Teknik Lingkungan. Fakultas Arsitektur Lansekap dan Teknologi Lingkungan. Universitas Trisakti, Jakarta.
- Sintorini MM dan AR Nugroho. 2003.** *Penuntun Praktikum Biologi/Mikrobiologi Lingkungan.* Jurusan Teknik Lingkungan FALTL Universitas Trisakti, Jakarta.
- Springael D. 2006.** Distribution of the *Mycobacterium* community and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) among different size fractions of a longterm PAH-contaminated soil. *Environ. Microbiol.* 8, 836-847.
- Uyttebroeck MP, M Breugelmans, M Janssen, P Wattiau, B Joffe, U Karlson, JJ Ortega-Calvo, L Bastiaens, A Ryngaert, M Hausner, D Johnsen, ARK Bendixen and U Karlson. 2002.** Detection of microbial growth on polycyclic aromatic hydrocarbons in microtiter plates using the respiration indicator WST-1. *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 2683-2689.